

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkranke
der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. A. HERRMANN

**Beispiel einer praktischen Erprobung
der Blutgasuntersuchungsmethode
nach Roughton und Scholander**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

HANS HERMANN HUPE

aus Peine

1957

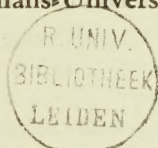
Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkranke
der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. A. HERRMANN

**Beispiel einer praktischen Erprobung
der Blutgasuntersuchungsmethode
nach Roughton und Scholander**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

HANS HERMANN HUPE

aus Peine

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. K. MÜNDNICH

Korreferent: Professor Dr. A. HERRMANN

Dekan: Professor Dr. W. BÜNGELER

Tag der mündlichen Prüfung: 5. 12. 1957

Einleitung

Bei der Aufgabe, im Tierversuch die Zusammensetzung der Blutgase während der Erstickung, während der reinen O_2 Insufflation bei Atemstillstand und während der N_2 Beatmung festzustellen, tauchten Schwierigkeiten bei der Wahl der Bestimmungsmethode auf. Die allgemein übliche Untersuchungsmethode ist die Methode nach v. Slyke (1). Diese benötigt jedoch für eine O_2 und CO_2 Bestimmung mit je einer Kontrollmessung ca. 5 ml. Blut. Da die größten zur Verfügung stehenden Tiere Kaninchen waren, mit einem Körpergewicht von ca. 2,5 kg und etwa einer Gesamtblutmenge von ca. 200 ml., außerdem eine halbminütige Blutentnahme über 5 bis 10 Minuten vorgesehen war, kam nur eine Mikromethode in Frage, um nicht unter ständig sich ändernden Versuchsbedingungen - die so große Blutentnahmen für ein Kaninchen bedeuten würden - arbeiten zu müssen. Es wurde deswegen auf die Mikrobestimmungsmethode nach Roughton und Scholander zurückgegriffen, die für eine Messung ca. 40 mm^3 Blut erfordert.

Methodik

Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet, die mit Urethan (ca. 6 ml./kg) narkotisiert wurden. Es wurde arterielles Blut aus der Arteria carotis auf die Weise entnommen, daß ein dünner Silikonschlauch mit Hilfe zweier silikonisierter Glaskanülen in die Arteria carotis eingeführt wurde. Die direkte Punktion der Arteria carotis hatte sich nicht bewährt, da beim Einführen einer größeren Kanüle in die Arterie das Gefäß, das nur einen Durchmesser von ca. 2 mm besitzt, sehr leicht einriß oder ganz durchstoßen wurde. Die Verwendung von Silikon garantierte eine genügend lange Gerinnungsfreiheit des Schlauches und der Kanülen über die Dauer des Versuchs. Sicherheitshalber wurden noch ca. 0,3 ml/kg Liquemin La Roche (1 ml = 5000 IE) i. v. gespritzt. Das Blut wurde aus der Arteria carotis dann auf folgende Weise entnommen: Der in die Arteria carotis eingeschaltete Silikonschlauch wurde mit einer starken Kanüle angestochen und das Blut in eine gewöhnliche 5 ml. Ganzglasspritze gesogen, ohne Luftblasen mit einzuziehen. Die Spritze wurde dann blasenfrei mit einem 1 cm langen dünnen Gummischlauch, der am Ende mit einem Glasstöpsel verschlossen war, verstopft. Vorher wurden einige Tropfen Hg in das Blut gebracht, was für eine spätere gleichmäßige Durchmischung des Blutes wichtig ist. Die Spritzen mit Blut wurden in Eiswasser aufbewahrt.

Die Erstickung wurde durch eine in die Trachea eingeführte verschließbare Glaskanüle herbeigeführt, später noch durch Atemlähmung mittels Curare bei gleichzeitiger O_2 Insufflation bzw. N_2 Beatmung, was jedoch für die hier vorliegende Arbeit nicht von Wichtigkeit ist.

Als Blutgasbestimmungsmethode wurde zunächst die Mikrobestimmungsmethode nach Roughton und Scholander verwendet, auf die genau eingegangen werden muß, um bei der nachfolgenden kritischen Betrachtung auf Einzelheiten ihrer Ausführung Bezug nehmen zu können.

In einer früheren Abhandlung haben Roughton und Scholander (2) eine einfache Mikrogasbestimmung beschrieben, zur Bestimmung von CO in ganz kleinen Blutmengen. Nach dieser Methode werden 40 mm^3 Blut in einer 1 ml Spritze mit Ferricyanid gemischt, das schon Pottasche und Saponin enthält. Danach wird ein Säurebildner dazugegeben. Das CO_2 , das sich beim Schütteln entwickelt, ruft eine Gasbildung hervor, die die anderen Gase aus dem Blut herauszieht, das sind O_2 , CO und N_2 . Nach Ablauf der Reaktion wird das CO_2 und das O_2 absorbiert durch alkalisches Pyrogallol und der geringe Gasrückstand in einer graduierten Kapillare gemessen, die an der Spitze der Spritze angeschmolzen ist. Das CO wird absorbiert durch die Winklersche Lösung und der Gasrückstand erneut gemessen. Aus der Differenz der beiden Messungen errechnet sich der CO - Gehalt des Blutes.

In einer anderen Abhandlung (3) haben Roughton und Scholander die Mikromethode auch zur Messung der anderen Blutgase ausgedehnt.

I. Sauerstoffbestimmung nach Roughton und Scholander

Apparate:

Das verwendete Instrumentarium ist im wesentlichen das gleiche wie bei der CO Bestimmung beschriebene. In seiner jetzigen Form besteht es aus einer 1 ml Pyrex-spritze. An ihrer Spitze ist eine Kapillare angeschmolzen mit einem genauen inneren Durchmesser von 0,5 mm. Die Spitze der Kapillare mündet in einen offenen Zylinder von ungefähr 2,5 mm $\varnothing$ und 1,5 cm Länge. Die Kapillare wird nach Angaben von Roughton und Scholander in 30 Teile zu je 2 mm eingeteilt. Für einige Fälle (CO_2 Bestimmung) ist eine 50er Einteilung von Nutzen. Die Blutpipette ist aus dünnwandigem Glas (1 - 1,5 mm Bohrung), verjüngt sich an der Spitze, so daß sie leicht auf den Boden des Zylinderglases gebracht werden kann. Die ausfließbare Menge (von einer Markierung ist bis zur Pipettenspitze) entspricht 100 Einheiten auf der Kapillare.

Grundsätzliches der O_2 Bestimmung:

Das Prinzip der O_2 Bestimmung nach Roughton und Scholander ist folgendes: Die Pipette wird bis zur Markierung mit Blut gefüllt. Dabei entspricht jeder Teilstrich auf der Kapillare 1 % der Blutmenge in der Pipette. Diese bestimm-

te Blutmenge in der Pipette wird ohne Luftzutritt auf die Pyrexspritze übertragen. Hier wird das O_2 , CO und N_2 des Blutes und der Reagenzien durch Bildung von CO_2 - das durch Reaktion einer Ferricyanidlösung mit einem Azetatlösungspuffer entsteht - herausgezogen. Das CO_2 wird dann durch 10%ige $NaOH$ absorbiert und das restliche Gasvolumen vor und nach der Absorption mit alkalischem Pyrogallol gemessen. Eine Temperaturangleichung bei beiden Messungen ist notwendig. Der Sauerstoffgehalt des Blutes beträgt dann: $(V_1 - V_2 - C) \cdot F$ Volumenprozent, wobei V_1 das Gasvolumen vor der Absorption mit Pyrogallol und V_2 das Volumen nach der Absorption ist, C ist der Faktor für den Sauerstoffgehalt der Reagenzien.

Roughton und Scholander geben einen Durchschnittswert für C von 1,0 - 1,1 Volumenprozent an. Es hat sich jedoch herausgestellt, daß dieser Wert erheblich schwanken kann und unbedingt durch eine Leerbestimmung festzustellen ist.

F ist der Korrekturfaktor für Temperatur, Wasserdampf- und Luftdruck, zu entnehmen aus Tabellen wie die von Peters und v. Slyke (4).

Aus vergleichenden Messungen mit der Methode von v. Slyke fanden Roughton und Scholander noch eine Korrektur von 0,15 Volumenprozent.

II. Stickstoffbestimmung nach Roughton und Scholander.

Die Bestimmung von N_2 im Blut ist der Methode der Sauerstoffbestimmung sehr ähnlich. Es kommt dasselbe Instrumentarium zur Anwendung. Das Prinzip der Methode ist folgendes: Das Blut wird in der Spritze mit Bicarbonat und Natriumphosphatlösung gemischt. Das sich entwickelnde CO_2 extrahiert aus der Flüssigkeit das N_2 des Blutes und der Reagenzien und teilweise das O_2 aber nicht das CO . Das CO_2 und O_2 wird dann mit alkalischem Hydrosulfit absorbiert und die übrige Gasblase aus N_2 gemessen. Das Ablesungsergebnis - ein im Leerversuch bestimmter Betrag für die Reagenzien wird abgezogen - wird mit den üblichen Koeffizienten für Temperatur, Wasserdampf- und Luftdruck multipliziert und das Ergebnis ist der N_2 -Gehalt des Blutes in Volumenprozent. Da der Gehalt an N_2 im Blut gewöhnlich ziemlich gering ist, empfiehlt es sich, um höhere Genauigkeit zu erreichen, die Versuche mit der drei- bzw. fünffachen Blutmenge durchzuführen.

III. CO_2 -Bestimmung nach Roughton und Scholander.

Bei der nun folgenden CO_2 -Bestimmungsmethode traten die eigentlichen Schwierigkeiten in der Mikromethode von Roughton und Scholander auf, zu deren Verständnis es unumgänglich ist, nicht nur das Prinzip, sondern auch die genaue Durchführung der Methode wiederzugeben.

Die Mikrobestimmungsmethode von O_2 , CO und N_2 beruht auf der Extraktion dieser Gase mit CO_2 , das aus den Reagenzien entsteht, und der Absorption dieser

Gase durch Alkali. Das gleiche Prinzip kann angewendet werden zur Bestimmung des CO_2 Gehaltes des Blutes, wenn nur ein anderes Gas als CO_2 als Extraktionsmittel benützt wird. Roughton und Scholander haben verschiedene in Frage kommende Gase wie CO , NO , SO_2 und H_2S ausprobiert, aber in allen Fällen sind sie auf so große Schwierigkeiten gestoßen, daß sie keines von ihnen verwenden konnten.

CO_2 ist ein zu ideales Extraktionsmittel zur Bestimmung der anderen Blutgase.

Die Bequemlichkeit der Mikromethode veranlaßte Roughton und Scholander jedoch, die Möglichkeit, sie auch für die Mikrobestimmung von CO_2 zu gebrauchen, nicht aufzugeben. Sie versuchten deshalb eine Vakuumextraktion in der Spritze, aufgrund der Überlegung, daß ein ganz geringes Einstromen der atmosphärischen Luft nicht ins Gewicht fällt, wenn nicht mehr als 0,1 % CO_2 hereinkommt. Bei der Technik, die unten beschrieben wird, haben Roughton und Scholander diesen Wert nicht berücksichtigt. Die Rückresorption von CO_2 ist besonders schnell und erfordert deshalb mehr Geschicklichkeit als die Technik weniger löslicher Gase. Die Genauigkeit ist nach Angaben von Roughton und Scholander etwas geringer als bei der O_2 - und N_2 Bestimmung.

Apparate:

1. Der Spritzenanalysator und die konisch auslaufende Pipette wie schon früher beschrieben.
2. Ein gummiüberzogener hölzerner Stöpsel, um die Kapillare während der Vakuumauspumpung fest zu verschließen (das Ende eines Zahnstochers wird mehrmals in etwas Uhu-Alleskleber getaucht und dieser antrocknen gelassen).
3. Ein Klemmstück, das den Spritzkolben in einer bestimmten Stellung festhält während der Vakuumextraktion (ein dünnes Metallblech wird U-förmig gebogen, seine Länge ergibt sich daraus, daß es zwischen Kolbenende und Spritzenende eingeklemmt ein Vakuum von 0,75 ml in der Spritze hervorruft). Bei Anwendung des Vakuums wird das eine Ende des Klemmstücks gegen das untere Ende des Kolbens gepreßt und dieser dann soweit herausgezogen, bis das andere Ende des Klemmstücks gegen das untere Ende der Spritze gepreßt werden kann.

Grundsätzliches der Methode:

Die Blutprobe und der Azetatpuffer werden in der Spritze evakuiert, durch Verschließen der Kapillare mit dem gummiüberzogenen Stöpsel und nachfolgendem Herausziehen des Kolbens auf das durch das Klemmstück festgesetzte Maß. Dann wird 2 Minuten geschüttelt. Das Vakuum wird wieder aufgehoben, indem man den Kolben zurückgleiten läßt und das Gasvolumen vor und nach der

Absorption durch Alkali gemessen. Eine Rückresorption von CO_2 während der Kompression wird nach Roughton und Scholander ausgeschaltet: 1. durch Benutzung eines Azetatpuffers von geringer CO_2 -Löslichkeit und 2. durch Säuerung der Kapillare von Flüssigkeit vor dem Schütteln. Wenn der Kolben zurückschleitet, geht nämlich die ganze Gasmenge in die gut gesäuberte Kapillare, so daß im letzten Stadium der Kompression, wenn der CO_2 Druck sich dem atmosphärischen angleicht, das Gas nur mit einer kleinen Menge Flüssigkeit in engem Kontakt steht.

Reagenzien:

1. CO_2 - freies destilliertes Wasser.
2. Kapryl-Alkohol.
3. Azetatpuffer ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
4. 10%ige NaOH .
5. Glycerin.

Arbeitsgang:

1. Die saubere Spritze wird auseinandergenommen, das Wasser aus dem Zylinder herausgeschüttelt und der Kolben getrocknet. Der hintere Teil des Kolbens wird mit ein paar Tropfen Glycerin gleitend gemacht und in den feuchten Zylinder eingeführt.
2. Der Zylinder wird mit destilliertem Wasser gefüllt und dieses einmal kräftig durch die Spritze gezogen.
3. Der Kolben wird sehr langsam herausgezogen, so daß sich der Wasserspiegel des Zylinders auf der Kapillare um 1 - 2 mm in die Kapillare senkt.
- 4a. Die Blutpipette wird gegen die Öffnung der Kapillare gehalten, so daß eine kleine Luftblase mit eingeschlossen wird. Das Blut wird dann in die Kapillare hineingezogen, wobei die Luftblase es vom Wasser trennt.
- 4b. Wenn genügend Blut zur Verfügung steht, geht man nach Angaben von Roughton und Scholander am besten so vor, daß man den Zylinder mit etwas Watte auf einem Zahnstocher reinigt, und dann bis zur Hälfte mit Blut anfüllt und eine kleine Luftblase mit in die Kapillare hineinzieht. Die oberste Blutschicht wird als Schutz gegen den CO_2 Verlust benutzt.
- 5a. Wenn der Blutspiegel die Markierung 30 oder 35 erreicht hat, wird die Pipette herausgezogen und das Blut im Zylinder abgesehen. Der obere Blutspiegel wird langsam auf die Markierung 0 gebracht und die Blutmenge abgelesen.
- 5b. Bei einem zweiten Verfahren wird das Blut auf eine besondere Markierung von 33, 3 heruntergezogen. Der obere Blutspiegel wird direkt auf die 0-Markierung gebracht. Auf diese Art wird genau ein Drittel der normalen Pipettenmenge benötigt, und die gefundene CO_2 -Menge braucht dann nur noch nach

- der Korrektur für Temperatur usw. mit 3 multipliziert werden und ergibt so den CO_2 -Gehalt in Volumenprozent.
6. Zwei Teilstriche Kapryl-Alkohol werden in die Kapillare gezogen.
 7. Der Glasbehälter am Ende der Kapillare wird dann bis zur Markierung mit Azetatpuffer gefüllt und dieser dann sehr langsam in die Spritze hereingezogen, bis der obere Flüssigkeitsspiegel 2 mm unterhalb des Bodens des Glaszylinders liegt.
 8. Das Gummiende des hölzernen Stöpsels wird mit Phosphatpuffer angefeuchtet und die anhängenden Tropfen auf den Boden des Gefäßes gebracht unter Einschluß einer kleinen Luftblase.
 9. Mit dem Stöpsel, der lose gegen den Boden des Gefäßes gedrückt wird, wird die Luftblase vorsichtig nach oben getrieben, bis sie die Stöpselspitze berührt. Der Stöpsel wird dann gegen den Boden des Gefäßes gepreßt, wobei die Luftblase in direkter Berührung mit dem Gummi bleibt.
 10. Frisches Glyzerin wird auf den Kolben gebracht.
 11. Ein Ende des Klemmstücks wird mit Hilfe der rechten Hand unterhalb des Kolbens gebracht.
 12. Während das Klemmstück und der Kolben am Boden gehalten werden, wird letzterer so herausgezogen, daß der Flüssigkeitsspiegel unter dem Stöpsel sich sehr langsam kapillarabwärts bewegt. Wenn die Kapillare und ihre Öffnung zur Spritze frei von Flüssigkeit ist, wird der Kolben herausgezogen und das Klemmstück gleichzeitig zwischen Kolbenende und Spritzenende gedrückt, wo es einrastet.
 13. Glyzerin wird auf den Kolben gebracht.
 14. Die Spritze wird mit dem Glasgefäß nach oben geschüttelt, so daß keine Flüssigkeit den Eingang zur Kapillare blockieren kann. Es wird 2 Minuten geschüttelt.
 15. Mit der von Flüssigkeit freien Kapillare wird der Kolben leicht herausgezogen, so daß das Klemmstück herausfallen kann. Der Kolben wird dann schnell in der Spritze nach oben bewegt, dem Sog folgend.
 16. Wenn das Gas den atmosphärischen Druck erreicht hat, wird der Stöpsel entfernt und der obere Flüssigkeitsspiegel auf die 0-Markierung gebracht.
 17. Die Kapillare wird für eine halbe Minute in ein Wasserbad mit Zimmertemperatur gebracht.
 18. Das Gasvolumen wird abgelesen (V 1), ohne unnötige Angleichung vorzunehmen, da dies hier zu meßbarer Rückresorption führt.
 19. Der Zylinder auf der Kapillare wird bis zum Rand mit Wasser gefüllt und dreiviertel des Wassers in die Spritze gezogen.
 20. Der Glaszylinder wird mit 10%iger Natronlauge angefüllt und nach unten geneigt und das Gas in das Alkali gegeben. Von diesem wird etwas in die Kapillare gezogen.

21. Die Temperaturangleichung der Kapillare wird vorgenommen und das Gasvolumen erneut gemessen (V_2).

Der CO_2 Gehalt des Blutes ergibt sich dann aus

$$\text{CO}_2 = (V_1 - V_2) \cdot f \cdot \frac{100}{b} \cdot i$$

Hierbei ist f der Koeffizient für Temperatur, Wasserdruck und Luftdruck, b die Blutmenge ausgedrückt in Kapillarteilstrichen und $i = 1,015$, ein Faktor, der die Rückresorption und unvollständige Extraktion kompensieren soll.

Zusammenfassend sagen Roughton & Scholander ihrer Methode folgende Vorteile nach:

- 1.) Verwendung einer geringen Blutmenge (ca. 40 mm^3)
- 2.) Geringe Zeitdauer für jede Messung (8 - 10 Min.)
- 3.) Geringer Aufwand im Vergleich zu der Methode von v. Slyke
- 4.) Genauigkeit für O_2 und N_2 Bestimmung von $\pm 0,7$ bzw. für die CO_2 Bestimmung $\pm 1,0$ Volumenprozent.

An Hand der nun folgenden Versuchsergebnisse soll die Mikrobestimmungsmethode nach Roughton und Scholander auf ihre Genauigkeit untersucht werden.

Ergebnisse

- 1.) Die nun folgenden zwei Meß-Serien für CO_2 und O_2 wurden an venösem Eigenblut vorgenommen und sind ohne Korrektur für Temperatur, Wasserdampf- und Luftdruck und Gasgehalt der Reagenzien, da die absoluten Werte nicht interessierten, sondern nur der Vergleich der Einzelwerte untereinander.

CO_2 Bestimmung

$\text{CO}_2 = (V_1 - V_2) \cdot f \cdot \frac{100}{b} \cdot i$, im vorliegenden Fall wurde bei der CO_2 Bestimmung mit der halben Blutmenge gearbeitet, deswegen $(V_I - V_{II}) \cdot 2 = (V_1 - V_2)$.

CO_2 Messerie 1	V_I	V_{II}	$V_I - V_{II}$	$V_1 - V_2$
	41,4	14,8	26,6	53,2
	37,5	12,0	25,5	51,0
	39,6	13,0	26,6	53,2
	42,7	14,1	28,6	57,2
	43,2	16,1	27,1	54,2
	38,8	11,3	27,5	55,0
	38,3	12,4	25,9	51,8
	39,9	13,1	26,8	53,6
	38,4	12,1	26,3	52,6
	38,7	11,8	29,9	53,8

Mittelwert: 53,3

Streuung: $\pm 3,1$

O₂ Bestimmung

$$O_2 = (V_1 - V_2 - C) \cdot F$$

O ₂ Messerie 1	V ₁	V ₂	V ₁ - V ₂
	21, 2	9, 2	12, 0
	21, 6	10, 1	11, 5
	20, 9	9, 7	11, 2
	20, 2	8, 9	11, 3
	20, 6	9, 2	11, 4
	21, 1	9, 7	11, 4
	19, 8	8, 2	11, 6
	21, 1	9, 3	11, 8
	21, 6	10, 5	11, 1
	20, 2	8, 7	11, 5
Mittelwert: 11, 5			
Streuung : $\pm$ 0, 5			

2.) Versuchsreihen mit Blutproben, die im Tierversuch bei der Erstickung von Kaninchen gewonnen wurden:

Es wurde meistens in den Zeitabständen 0 Minute, 1/2 Min., 2 1/2 Min. und 5 Min. von Beginn des Versuchs an Blut aus der Arteria carotis entnommen. Hieraus ergibt sich die besondere Anordnung, die jedoch für die vorliegende Arbeit ohne Bedeutung ist. Im Rahmen dieser Arbeit ist jede der 49 Messerien für sich unabhängig von den anderen auf ihre Genauigkeit hin zu betrachten. Die Hauptschwierigkeiten lagen bei der CO₂ Bestimmung, von der auch die meisten Messerien gemacht werden mußten, um einen Überblick über ihre Genauigkeit zu bekommen. Gleichzeitig wurden bei einigen Tierversuchen auch O₂ Bestimmungen und einmal einige N₂ Bestimmungen vorgenommen.

Die CO₂ Bestimmungen wurden mit der halben Blutmenge durchgeführt. Alle Werte sind ohne Korrektur für Wasserdampfdruck, Luftdruck, Temperatur und Gasgehalt der Reagenzien.

1. Kaninchen: ♂, schwarz, Gew.: 3, 2 kg, Urethan: 21 cm³, Liquemin: 1, 0 cm³
 Temperatur: 19, 1°, Luftdruck: 720 mm.

Min.	CO ₂ Messerie 2:	CO ₂ % O ₂ Messerie 2:	O ₂ % N ₂ Messerie 1:	N ₂ %
0		56, 0	12, 9	4, 2
		57, 2	13, 1	4, 3
		54, 6	12, 7	4, 5
			13, 0	4, 3
	Mittelwert: 55, 6	Mittelwert: 12, 9	Mittelwert: 4, 3	
	Streuung: ± 1, 4	Streuung: ± 0, 2	Streuung: ± 0, 3	

1/2	CO ₂ Messerie 3:	O ₂ Messerie 3:	N ₂ Messerie 2:
	54, 4	9, 1	4, 5
	57, 4	9, 5	4, 0
	51, 6	9, 3	4, 3
	56, 0	9, 7	4, 4
	Mittelwert: 54, 9	Mittelwert: 9, 4	Mittelwert: 4, 3
	Streuung: ± 2, 9	Streuung: ± 0, 3	Streuung: ± 0, 3

	CO ₂ Messerie 4:	O ₂ Messerie 4:
2 1/2	65, 8	2, 2
	67, 0	2, 4
	60, 6	2, 0
		2, 5
	Mittelwert: 62, 2	Mittelwert: 2, 3
	Streuung: ± 3, 2	Streuung: ± 0, 3

	CO ₂ Messerie 5:	O ₂ Messerie 5:	N ₂ Messerie 3:
5	59, 2	1, 5	4, 3
	56, 4	1, 8	4, 7
	57, 7	1, 1	4, 4
			4, 1
	Mittelwert: 57, 7	Mittelwert: 1, 6	Mittelwert: 4, 4
	Streuung: ± 1, 4	Streuung: ± 0, 2	Streuung: ± 0, 3

2. Kaninchen: ♂, braun, Gew.: 2,7 kg, Urethan: 16 cm³, Liquemin: 1,0 cm³
 Temperatur: 18,1°, Luftdruck: 750 mm.

Min.	CO ₂ Messerie 6:	CO ₂ %
0		59,9
		60,0
		55,0
		57,8
	Mittelwert: 58,1	
	Streuung: ± 2,4	

	CO ₂ Messerie 7:	
1/2		61,6
		58,2
	Mittelwert: 59,9	
	Streuung: ± 1,7	

	CO ₂ Messerie 8:	
2 1/2		72,2
		72,3
		69,7
	Mittelwert: 71,4	
	Streuung: ± 1,4	

	CO ₂ Messerie 9:	
5 1/2		63,0
		62,6
		59,4
		59,8
	Mittelwert: 61,2	
	Streuung: ± 1,8	

3. Kaninchen: $\ddot{O}$, grau, Gew.: 4,5 kg, Urethan: 24 cm³, Liquemin: 1,2 cm³
 Temperatur: 18,8°, Luftdruck: 741 mm.

Min.	CO ₂ Messerie 10:	CO ₂ %	O ₂ Messerie 6:	O ₂ %
0		52,2		17,9
		55,2*		17,0
		48,9		16,8
		55,2		17,2
		54,2		
	Mittelwert: 53,1		Mittelwert: 17,2	
	Streuung: $\pm$ 3,1		Streuung: $\pm$ 0,5	

	CO ₂ Messerie 11:	O ₂ Messerie 7:
1/2	57,0	10,7
	60,3	11,1
	56,4	11,8
		11,3
	Mittelwert: 57,9	Mittelwert: 11,2
	Streuung: $\pm$ 1,9	Streuung: $\pm$ 0,5

	CO ₂ Messerie 12:	O ₂ Messerie 8:
2 1/2	66,0	2,9
	65,8	2,8
	62,0	2,6
	68,4	
	66,8	
	Mittelwert: 65,8	Mittelwert: 2,7
	Streuung: $\pm$ 3,2	Streuung: $\pm$ 0,2

	CO ₂ Messerie 13:	O ₂ Messerie 9:
5 1/2	55,4	2,3
	61,6	2,7
	65,8	2,9
	58,2	2,2
	61,8	
	56,8	
	60,4	
	Mittelwert: 60,0	Mittelwert: 2,5
	Streuung: $\pm$ 5,2	Streuung: $\pm$ 0,4

4. Kaninchen: ♀, graubraun, Gew.: 2,5 kg, Urethan 16 cm³, Liquemin: 0,9 cm³
 Temperatur: 18,0°, Luftdruck: 718 mm

Min.	CO ₂ Messerie 14:	CO ₂ %
0		52,7
		57,9
		52,6
		55,6
		55,8
		50,3
		Mittelwert: 54,9
		Streuung: ± 3,8

	CO ₂ Messerie 15:	
1/2		60,4
		59,0
		60,0
		62,0
		Mittelwert: 60,3
		Streuung: ± 1,5

	CO ₂ Messerie 16:	
2 1/2		60,6
		56,8
		68,0
		56,4
		69,0
		Mittelwert: 62,1
		Streuung: ± 6,2

	CO ₂ Messerie 17:	
5 1/2		61,8
		62,0
		59,4
		61,6
		Mittelwert: 61,2
		Streuung: ± 1,3

5. Kaninchen: ♂, grau, Gew.: 2,4 kg, Urethan 18 cm³, Lequemin: 0,9 cm³
 Temperatur: 19,2°, Luftdruck: 732 mm.

Min.	CO ₂ Messerie 18:	CO ₂ %
0		60,2
		54,0
		54,0
		56,4
	Mittelwert:	55,4
	Streuung: ±	3,1
	CO ₂ Messerie 19:	
1/2		62,0
		61,6
		61,2
	Mittelwert:	61,6
	Streuung: ±	0,4
	CO ₂ Messerie 20:	
2 1/2		62,0
		62,6
		67,6
		62,7
	Mittelwert:	63,7
	Streuung: ±	2,8
	CO ₂ Messerie 21:	
5 1/2		63,0
		62,4
	Mittelwert:	62,7
	Streuung: ±	0,3

6. Kaninchen: ♀, silbergrau, Gew.: 3,8 kg, Urethan 16 cm³, Liquemin: 1,2 cm³
 Temperatur: 18,9°, Luftdruck: 745 mm.

Min.	CO ₂ Messerie: 22:	CO ₂ %
0		59,9
		60,2
		55,0
		57,8
		Mittelwert: 57,7 Streuung: ± 2,6
CO ₂ Messerie 23:		
1/2		61,6
		58,2
		Mittelwert: 59,9 Streuung: ± 1,7
CO ₂ Messerie 24:		
1		64,7
		69,6
		66,8
		Mittelwert: 66,5 Streuung: ± 2,4
CO ₂ Messerie: 25:		
1 1/2		72,0
		69,2
		70,6
		Mittelwert: 70,6 Streuung: ± 1,4
CO ₂ Messerie 26:		
2 1/2		72,2
		72,2
		69,7
		Mittelwert: 71,4 Streuung: ± 1,4
CO ₂ Messerie 27:		
3 1/2		57,6
		68,0
		68,6
		Mittelwert: 64,7 Streuung: ± 4,5

3.) Vergleichende Untersuchungen v. Slyke - Roughton & Scholander (Die Werte von Roughton & Scholander mit Korrekturen für Luftdruck, Wasserdampfdruck, Temperatur, Rückresorption und unvollständige Extraktion).

7. Kaninchen: ♂, schwarzbraun, Gew.: 5,5 kg, Urethan 20,0 cm³, Liquemin: 1,5 cm³
Temperatur: 18,6°, Luftdruck 713 mm.

V a n S l y k e		S c h o l a n d e r
Min.	CO ₂ Messerie 28: CO ₂ %	CO ₂ %
0	50,39	60,2
		54,0
		54,0
		54,6
	Mittelwert m. Korrektur: 53,7	56,4
		Mittelwert: 55,8 Streuung: ± 3,1
CO ₂ Messerie 29:		
1,2	58,58	62,0
		61,6
		66,2
		61,2
	Mittelwert m. Korrektur: 60,4	Mittelwert: 62,7 Streuung: ± 2,5
CO ₂ Messerie 30:		
2 1/2	60,27	62,0
		62,6
		67,6
		62,7
	Mittelwert m. Korrektur: 61,4	Mittelwert: 63,7 Streuung: ± 2,8
CO ₂ Messerie 31:		
5	59,26	63,0
		62,4
	Mittelwert m. Korrektur: 60,4	Mittelwert: 62,7 Streuung: ± 0,3

8. Kaninchen: ♂, grau, Gew.: 2,7 kg, Urethan 18,0 cm³, Liquemin: 1,0 cm³,
Temperatur 18,0°, Luftdruck 709 mm.

V a n S l y k e		S c h o l a n d e r	
Min.	Co ₂ Messerie 32: Co ₂ %		Co ₂ %
0	46,75		48,7
			48,5
			47,4
	Mittelwert	Mittelwert	48,1
	m. Korrektur: 46,01	Streuung: ±	0,65
Co ₂ Messerie 33:			
1/2	52,38		53,0
			55,4
			54,7
	Mittelwert	Mittelwert	54,4
	m. Korrektur: 52,03	Streuung: ±	1,2
Co ₂ Messerie 34			
2 1/2	54,26		56,0
			57,6
	Mittelwert	Mittelwert	56,8
	m. Korrektur: 54,32	Streuung: ±	0,5
Co ₂ Messerie 35			
5	54,20		56,0
			55,0
			53,7
	Mittelwert	Mittelwert	54,7
	m. Korrektur: 52,32	Streuung: ±	1,15

Besprechung der Versuchsergebnisse:

I. O₂-Bestimmung:

Roughton und Scholander geben in ihren Ausführungen über die Genauigkeit ihrer O₂-Bestimmungsmethode eine Streuung von $\pm 0,7$ Volumenprozent an. Wenn man die Ergebnisse unserer neun Meßserien betrachtet, so geht auch aus ihnen hervor, daß diese Genauigkeit sich ohne Weiteres erreichen läßt. Die größte Streuung, die bei den vorliegenden O₂-Bestimmungen auftrat, lag mit $\pm 0,5$ Volumenprozent noch unter dem Roughton und Scholander angegebenen Genauigkeitsgrad. Die Betrachtung der einzelnen Werte der Meßserien unter sich verstärkt dies Bild noch, liegen die Werte doch sehr dicht beieinander, und es traten selbst bei Messerie I mit zehn Einzelwerten keine größere Abweichung auf. Die Methodik der O₂-Bestimmung bereitete keine Schwierigkeiten.

II. N₂-Bestimmung:

Einige N₂-Bestimmungen wurden am Rande durchgeführt. Wegen der geringen Zahl der Messungen kann nichts Endgültiges über die Methode gesagt werden. Ihre Durchführung gleicht der O₂-Bestimmung sehr; Schwierigkeiten traten nicht auf. Im Gegensatz zu Roughton und Scholander, die für den N₂-Gehalt der Reagenzien 1,5 Teilstriche auf der Kapillare von der gemessenen Gasmenge abzogen, wurde im Leerversuch festgestellt, daß im vorliegenden Fall der Betrag viel höher war, nämlich ca. 4 Teilstriche betrug. Trotz der wenigen durchgeführten Messungen erscheint es sicher, daß die Genauigkeit der N₂-Bestimmung in derselben Größenordnung wie die der O₂-Bestimmung liegt.

III. CO₂-Bestimmung:

Bei der CO₂-Bestimmungsmethode nach Roughton und Scholander traten die eigentlichen Schwierigkeiten der Mikrogasbestimmung auf. Deswegen wurden hiervon auch die meisten Messungen durchgeführt, von denen nur ein kleiner Teil wiedergegeben wurde. Obigen Messungen vorangingen Probestimmungen, die sich über mehrere Monate hinzogen, bis die Technik der CO₂-Bestimmung so beherrscht wurde, daß keine durch Unkenntnis entstandene Fehlmessungen mehr vorkamen. Im Gegensatz zur O₂- und N₂-Bestimmung zeigte es sich nämlich hier, daß trotz ganz genauer Beachtung der Vorschriften von Roughton und Scholander durch Zufälle und Kleinigkeiten hervorgerufen große Fehler entstanden.

Was die Genauigkeit der CO₂-Bestimmungsmethode anbetrifft, so räumen Roughton und Scholander eine etwas geringere Genauigkeit gegenüber der

O_2 - und N_2 -Bestimmung en, geben jedoch nur eine Streuung von nur ± 1 Volumenprozent an. Trotz peinlichster Genauigkeit in der Durchführung der Methode konnte, wie sich aus obigen Versuchsreihen ergibt, diese geringe Streuung nicht oder nur in Ausnahmefällen erreicht werden. In einzelnen Meßserien ergab sich eine Streuung von $\pm 1,4$ Volumenprozent, jedoch ergaben sich in anderen Fällen, ohne daß sich Meßfehler nachweisen ließen, auch wieder Streuungen von ± 6 Volumenprozent. Auffallend war, daß trotz größter Exaktheit immer wieder innerhalb größerer Meßserien einige Werte auftraten, die sehr stark von den übrigen abwichen.

So ist es im Vergleich zu den Meßserien der O_2 - und N_2 -Bestimmungen, bei denen die Einzelwerte immer dicht beieinander lagen, schon beim flüchtigen Betrachten der CO_2 -Ergebnisse klar erkennlich, daß hier eine erhebliche Ungenauigkeit auftritt. Es wurde wegen dieser auffallend großen Streuungen auch davon abgesehen, den mittleren Fehler zu bestimmen oder mit Hilfe des Fischerschen t-Tests aus diesen kleinen Versuchsreihen brauchbaren Nutzen zu ziehen.

In den insgesamt angeführten 35 CO_2 Meßserien mit ca. 130 Einzelmessungen war es nicht möglich, die von Roughton und Scholander gemachten Angaben über die Genauigkeit ihrer CO_2 Methoden zu bestätigen. Hierüber dürfen auch nicht zufällige kleine Streuungen wie $\pm 1,4$ Volumenprozent hinwegtauschen und auch nicht die Vergleichsmeßserien 28-35, wo in einzelnen Fällen recht gute Übereinstimmungen der absoluten CO_2 Werte mit den Ergebnissen der van Slykeschen Kontrollmessungen zu finden ist. Dafür beträgt aber auch hier die Abweichung in einem Fall wieder 3,3 Volumenprozent. Die vergleichenden Messungen sind auch viel zu wenige, um aus ihnen etwas Genaueres über die CO_2 -Bestimmung abzuleiten. Auffallend war eben immer wieder, daß bei längeren Meßserien große Abweichungen bei den Einzelwerten untereinander auftraten. Bei den von Roughton und Scholander in ihren Ausführungen wiedergegebenen Ergebnissen handelte es sich allerdings auch nur um 3 Meßserien mit je 3 Einzelmessungen.

Gegenüber den O_2 - und N_2 -Bestimmungsmethoden weist die CO_2 -Bestimmung auch schon rein methodisch einige Schwachpunkte auf, die im Folgenden angeführt werden sollen:

1. Roughton und Scholander empfehlen für die CO_2 -Messung die Verwendung von nur einem Drittel der Gesamtblutmenge in der Pipette (bedingt durch die Größe der abzulesenden Gassäule im Verhältnis zu der Länge der Kapillare). Das bedeutet, daß jeder abgelesene Wert mit drei zu multiplizieren ist, wodurch die Ablesungsfehler sich verdreifachen. Bei den oben angeführten Ergebnissen wurde dies etwas verbessert, indem eine Pyrex-Spritze mit einer längeren Kapillare und einer 50 - er Einteilung verwendet wurde,

wodurch sich Ablesungsfehler nur verdoppeln konnten.

Die Ablesungsfehler dürfen nicht unterschätzt werden, da die Skala auf der Kapillare eine Einteilung aufweist, bei der zwischen zwei Skaleneinheiten, deren Abstand 1 Prozent der Gesamtblutmenge entspricht, nur ein Abstand von 2 mm besteht, und somit eine Ablesung auf 0,1 Volumenprozent, was 0,2 mm entspräche, ziemliche Ungenauigkeiten mit sich bringen muß, die sich nun bei der CO_2 -Methode noch verdreifachen bzw. verdoppeln.

2. Roughton und Scholander räumen die Möglichkeit eines geringen Einströmens der atmosphärischen Luft in die Pyrex-Spritze während der Evakuierung ein, messen dem aber keinen Wert bei, solange weniger als 0,1 % CO_2 mit einströmt.

Die atmosphärische Luft hat ja nur einen niedrigen Gehalt an CO_2 , sodaß dies so leicht nicht zu befürchten ist. Man darf dabei aber wohl auch nicht unberücksichtigt lassen, daß durch das unkontrollierte Einströmen von Außenluft das Vakuum verändert wird, was sich wieder in einer verschiedenen starken Extraktion der Blutgase bemerkbar machen kann. Das Einströmen geringer Mengen Luft läßt sich trotz guter Dichtung mit Glycerin manchmal nicht ganz vermeiden.

3. Die Hauptschwierigkeit bei der CO_2 -Bestimmung liegt aber v.a. in einer sehr schnellen Rückresorption des CO_2 . Im Arbeitsgang 15 a ihrer CO_2 -Bestimmungsmethode weisen Roughton und Scholander darauf hin, daß der Kolben der Pyrex-Spritze schnell bei der Kompression zurückgleiten soll, damit das CO_2 rasch in die Kapillare gelangt, wo es nur mit einem ganz kleinen Flüssigkeitsspiegel in Berührung steht. Bei diesem Vorgang ergibt es sich leider oft, daß die Gassäule in der Kapillare vielfach durch Flüssigkeitsreste unterbrochen ist - dies trotz Anwendung von Kapryl-Alkohol und Azetatpuffer. Durch diese Unterbrechungen ergeben sich zwangsläufig Ungenauigkeiten in der Ablesung. Ein nochmaliges Herunterziehen der Gassäule in den Spritzenkolben ist wegen der enorm schnellen Rückresorption nicht möglich.

Zusammenfassung:

In 130 CO_2 - und 40 O_2 -Messungen ergab sich:

1. Die Mikrogasanalyse nach Roughton und Scholander hat gegenüber der Methode von van Slyke zwei Vorteile: sie benötigt für jede Einzelbestimmung nur ca. 40 mm³ Blut gegenüber ca. 2-5 cm³ bei van Slyke. Zum anderen ist der Aufwand, der zu den Untersuchungen nötig ist, nur sehr gering. Ferner braucht man für eine Mikrobestimmung nur zwischen 10 bis

15 Min., während eine Laborassistentin am Tag nur etwa 10 van Slyke-Bestimmungen mit entsprechenden Kontrollmessungen durchführen kann.

2. Es hat sich gezeigt, daß die O_2 -Bestimmung und wahrscheinlich auch die N_2 -Bestimmung - wegen der wenigen durchgeführten N_2 -Messungen kann Letzteres nicht mit Sicherheit gesagt werden - recht gute Genauigkeit zuläßt. Die von Roughton und Scholander angegebene Streuung von $\pm 0,7$ Volumenprozent ließ sich ohne Weiteres erreichen.
3. Bei den 130 oben wiedergegebenen CO_2 -Messungen war es nicht möglich, die von Roughton und Scholander angegebene Streuung von ± 1 Volumprozent zu erreichen. In wenigen Fällen wurde eine Streuung von $\pm 1,4$ Volumprozent erzielt, jedoch läßt sich diese Streuung auf Grund der Seltenheit dieser guten Genauigkeit und vor allem auch wegen der angeführten Unsicherheitsfaktoren in der Methode der CO_2 -Bestimmungen nicht garantieren.

Abschließend muß gesagt werden, daß es wegen der Ungenauigkeit der CO_2 -Messungen nicht möglich war, die Mikrogasanalyse nach Roughton und Scholander für die geplanten Erstickungsversuche an Kaninchen anzuwenden. Trotz der notwendig größeren Blutmenge und des erheblich größeren Aufwandes wurde deswegen auf die Untersuchungsmethode von van Slyke zurückgegriffen, wobei die Zahl der Blutabnahmen von zehn auf vier herabgesetzt werden mußte.

Das Thema der hier vorliegenden Arbeit wurde mir freundlicherweise von Herrn Professor Dr. med. Mündnich gestellt; bei den Tierexperimenten waren uns Herr Professor Mündnich und Herr Dr. Zühlke und bei der reinen Labormethodik Herr Dr. Zühlke behilflich.

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde am 31. August 1956 abgeschlossen.

LITERATUR

1. Conzolarzio Metabolic Methods, 261 - 298
 Johnson
 Marek
2. Scholander, P. F. J. Ind. Hyg. and Toxicol., 24, 218 (1942)
 Roughton, F. J. W.
3. Scholander, P. F. J. Biol. Chem., 148, 541 - 571 -(1943)
 Roughton, F. J. W.
4. Peters, J. P. Quantitative clinical chemistry, Methods,
 Van Slyke, D. D. Baltimore, 129, Table 15 (1932)

LEBENS LAUF

A Am 23. April 1933 wurde ich, Hans Hermann Hupe als Sohn des Zahnarztes
D Dr. med. dent. Hermann Hupe und seiner Ehefrau Henriette, geb. Maris, in
P Peine bei Hannover geboren.

M Mein Glaubensbekenntnis ist ev.-luth.

V Von 1939 bis 1952 besuchte ich die Grundschule und die Oberschule. 1952 legte
ich an der Oberschule für Jungen in Peine die Reifeprüfung ab.

I Im S. S. 1952 begann ich mein Studium an der Georg-August-Universität Göt-
tingen, wo ich im S. S. 1953 mein Physikum mit der Note "Sehr Gut" bestand.

S Seit dem S. S. 1954 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in
M München, wo ich im Herbst 1955 das Staatsexamen mit der Note "Gut" ablegte.

N Nach dem Examen bemühte ich mich um eine experimentelle Arbeit in der Hals-
N Nasen-Ohren Klinik der Universität München.

D Diese Arbeit lege ich hier vor.

A An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. med. Mündnich für die Auf-
merksamkeit danken, die er mir bei der Anfertigung der Arbeit entgegen
brachte.

